

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-092

**Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Лобанов А.В., Давыдова Т.В.**

## **Влияние антител к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов антител к глутамату на уровень тревожности стареющих мышей C57Bl/6**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

125415, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

**Введение.** Высокая степень личностных тревожных расстройств выявляется у 96% пожилых и у 100% людей старческого возраста, а у 50% пожилых и 56% лиц старше 75 лет наблюдается повышение реактивной тревожности. Несмотря на наличие большого арсенала фармакологических средств для лечения тревожных расстройств, перспективным остается разработка лекарственных препаратов на основе антител и их фрагментов, благодаря таким свойствам, как специфичность, и метаболическая активность. Ранее в опытах на мышах BALB/C было показано снижение уровня тревожности при однократном внутрибрюшинном введении антител к глутамату. В опытах на стареющих мышах и на экспериментальных моделях болезни Альцгеймера, показан антиамнестический эффект при интраназальном введении аффинно-очищенных поликлональных антител к глутамату. Цель исследования – изучение влияния интраназального введения антител к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов антител к глутамату на уровень тревожности у стареющих мышей C57Bl/6.

**Методика.** Исследование выполнено на мышах линии C57Bl/6 в возрасте 12 мес. Мыши были разделены на три группы: две опытные группы получали интраназально растворенные в физиологическом растворе поликлональные моноспецифические антитела к глутамату (АТ-ГЛУ) и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ соответственно в дозе 250 мкг/кг в объеме 4 мкл в ежедневно в течение 3 дней. Мыши контрольной группы получали интраназально физиологический раствор в том же объеме. Оценивали поведенческую активность мышей в тесте «Открытое поле» и уровень тревожности в условиях теста «приподнятый крестообразный лабиринт».

**Результаты.** Интраназальное введение стареющим мышам АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов АТ-ГЛУ приводило к значимому увеличению количества посещений и времени пребывания в центре поля, к снижению времени пребывания в углах и увеличению количества стоек в углах открытого поля при сравнении с животными группы контроля. Анализ результатов тестирования в приподнятом крестообразном лабиринте показал, что мыши, получавшие интраназально АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ, существенно увеличивали время, проведенное в открытых рукавах лабиринта, а также число реакций «свешивания» (заглядывание под лабиринт) по сравнению с мышами контрольной группы, что свидетельствует о снижении уровня тревожности и страха.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о снижении уровня тревожности и страха у стареющих мышей C57Bl/6, получавших антитела к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты антител к глутамату.

**Ключевые слова:** антитела к глутамату; F(ab')<sub>2</sub> фрагменты; тревожность; старение

**Для цитирования:** Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Лобанов А.В., Давыдова Т.В. Влияние антител к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов антител к глутамату на уровень тревожности стареющих мышей C57Bl/6. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(3): 21–28.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.21-28

**Участие авторов:** концепция и дизайн работы – Давыдова Т.В.; сбор материала – Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Лобанов А.В.; анализ и интерпретация данных – Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Лобанов А.В.; статистическая обработка – Ветрилэ Л.А.; написание статьи – Ветрилэ Л.А.; редактирование статьи – Давыдова Т.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

**Для корреспонденции:** Ветрилэ Лучия Александровна, e-mail: Vetrile.l@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.06.2023

Принята в печать 12.07.2023

Опубликована 20.09.2023

Vetrile L.A., Zakharova I.A., Lobanov A.V., Davydova T.V.

## Effects of glutamate antibodies and F(ab')<sub>2</sub> fragments of glutamate antibodies on the anxiety level in aging C57Bl/6 mice

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
Baltiyskaya St. 8, Moscow, 125415, Russian Federation

**Introduction.** Anxiety disorder occurs in approximately 15-25% of the adult population. A high degree of anxious personality disorders was found in 96% of old people and in 100% of very old people, whereas 50% of old people and 56% of people older than 75 had increased reactive anxiety. In persistent anxiety, production of  $\beta$ -amyloid increases and contributes to the development of neurodegenerative diseases of old age. Despite the availability of a large arsenal of pharmacological agents for the treatment of anxiety disorders, development of drugs based on antibodies and their fragments is promising due to their specificity, activity, and metabolic activity. Previous experiments on BALB/C mice showed a decrease in the anxiety level after a single intraperitoneal injection of glutamate antibodies. Experiments on aging mice and experimental models of Alzheimer's disease demonstrated an anti-amnesic effect of affinity-purified polyclonal glutamate antibodies administered intranasally. **The aim of the study** was to evaluate the effect of intranasal glutamate antibodies and F(ab')<sub>2</sub> fragments of glutamate antibodies on the level of anxiety in aging C57Bl/6 mice.

**Methods.** The study was performed on 12-month-old C57Bl/6 mice. Mice were divided into three groups: two experimental groups received polyclonal monospecific antibodies to glutamate (AT-GLU) and F(ab')<sub>2</sub> fragments of AT-GLU. The agents were dissolved in saline and administered intranasally at a dose of 250  $\mu$ g/kg in a volume of 4  $\mu$ l, daily for 3 days. Mice of the control group received intranasal saline in the same volume. The behavioral activity of mice was assessed by the open field test and the level of anxiety by the elevated plus maze test.

**Results.** Intranasal administration of AT-GLU and F(ab')<sub>2</sub> fragments of AT-GLU to aging mice resulted in a significant increase in the number of visits to and the time spent in the center of the open field, a decrease in the time spent in the corners, and an increase in the number of rears in the corners of the open field compared to the control group. The elevated plus maze test showed that mice treated with AT-GLU and F(ab')<sub>2</sub> fragments of AT-GLU significantly increased the time spent in the open arms of the maze, as well as the number of unprotected head dips compared to the control group, which indicated a decrease in anxiety and fear.

**Conclusion.** The study results indicated a possible decrease in the level of anxiety and fear in aging C57Bl/6 mice treated with glutamate antibodies and F(ab')<sub>2</sub> fragments of glutamate antibodies, which suggested an anxiolytic effect of glutamate antibodies and their F(ab')<sub>2</sub> fragments.

**Keywords:** glutamate antibodies; F(ab')<sub>2</sub> fragments; anxiety; aging

**For citation:** Vetrile L.A., Zakharova I.A., Lobanov A.V., Davydova T.V. Effects of glutamate antibodies and F(ab')<sub>2</sub> fragments of glutamate antibodies on the anxiety level in aging C57Bl/6 mice. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(3) 21–28. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.21-28

**Author's contribution:** the concept and design of the work – Davydova T.V.; collection of material – Vetrile L.A., Zakharova I.A., Lobanov A.V.; data analysis and interpretation – Vetrile L.A., Zakharova I.A., Lobanov A.V.; statistical processing – Vetrile L.A.; text writing – Vetrile L.A.; editing – Davydova T.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** Lucia A. Vetrile, Candidate of Medical Sciences, leading researcher, e-mail: Vetrile.l@yandex.ru

### Information about the authors:

Vetrile L.A., <https://orcid.org/0000-0001-9783-4711>

Lobanov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5159-3227>

Zakharova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-4214>

Davydova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-3176-1035>

**Financing.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 08.06.2023

Accepted 12.07.2023

Published 20.09.2023

## Введение

Одной из актуальных проблем пожилых людей является повышенная тревожность. Тревожность относится к широко распространенному психологическому феномену с наиболее выраженными эмоциональными реакциями, возникающими в критические моменты, и которые являются причиной неврозов и функциональных психозов [1, 2]. Выделяют личностную тревожность (врожденное свойство личности) и ситуативную или реактивную (связанную с конкретной внешней ситуацией). Тревожные расстройства встречаются примерно у 15 – 25% взрослого населения и до 30-40% среди пациентов неврологических и терапевтических отделений поликлиник [3–5]. По мере старения организма наблюдаются усиление эмоционального напряжения и функциональные нарушения адаптивного ответа на стрессовые ситуации, что имеет повышенный риск возникновения неврозов, функциональных психозов и развития различных расстройств эмоциональной сферы личности [1, 5, 6]. Высокая степень личностных тревожных расстройств найдена у 96% пожилых и у 100% людей старческого возраста. У 50% пожилых и 56% лиц старше 75 лет наблюдается повышение реактивной тревожности [1]. Тревожные расстройства часто сочетаются с другими соматическими заболеваниями, в частности с депрессией, что рассматривается как предиктор неблагоприятного клинического течения и прогноза психосоматики [7]. Степень коморбидности меняется с возрастом, чем старше человек, тем коморбидность тревоги и депрессии выше [3, 8]. Длительная тревожность сама по себе способствует формированию и развитию психосоматической патологии, повышает риск злоупотребления психоактивными веществами, а также ухудшает течение и прогноз уже имеющихся соматических заболеваний [5, 7]. Показано, что при персистирующей тревоге повышается продукция  $\beta$ -амилоида, оказывающего нейротоксическое действие и способствующее развитию нейродегенеративной патологии и болезни Альцгеймера у пожилых людей. Считают, что тревога, это первое эмоциональное расстройство, которое развивается при нейродегенеративных заболеваниях [7]. В патогенез тревожных расстройств вовлечены преимущественно моноаминергические системы мозга (серотонин-, дофамин-, норадреналин-ергические) [4, 7]. В то же время данные литературы свидетельствуют о повышенной возбуждающей активности глутамат-ергической системы при тревожных нарушениях и снижении активности гаммааминомасляной кислоты (ГАМК). Возникает определенный патологиче-

ский замкнутый круг в связи с гиперактивацией глутамат-ергической нейротрансдачи и угнетением ГАМК-ергической системы [4, 7–10]. Было установлено, что блокирование глутамат-ергической нейротрансдачи приводило к восстановлению тревожно-подобного поведения животных, а антагонисты глутамата проявляли свойства анксиолитиков в экспериментальных условиях [4, 9]. Несмотря на наличие большого арсенала фармакологических средств для лечения тревожных расстройств (антидепрессанты различных фармакологических групп и бензодиазепины) [4, 7, 8, 10], в настоящее время изучаются анксиолитические эффекты антагонистов глутамата и блокаторов глутаматных рецепторов при лечении данной патологии [4, 5, 8, 9–13]. Многообещающим направлением в лечении нейродегенеративных заболеваний является разработка лекарственных препаратов на основе антител и их фрагментов благодаря таким свойствам, как специфичность и метаболическая активность [14–16]. Ранее в опытах на стресс чувствительных мышах Balb/c в тестах «черно-белая камера» и «подвешивание за хвост» нами была продемонстрирована возможность снижения уровня тревожности антителами к глутамату при однократном внутривнутрибрюшинном введении [17]. Протективный эффект антител к глутамату при их внутривнутрибрюшинном и интраназальном введении был продемонстрирован на моделях стресс-индуцированного синдрома у крыс [18], МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома у мышей [19] и экспериментальной модели болезни Альцгеймера [20]. В опытах на стареющих мышах C57Bl/6 показан антиамнестический эффект аффинно-очищенных поликлональных антител к глутамату при их интраназальном введении [21]. Данные литературы свидетельствуют об усилении тревожного поведения у стареющих мышей [25].

**Цель исследования** – изучение влияния интраназального введения антител к глутамату и  $F(ab')_2$  фрагментов антител к глутамату на уровень тревожности у стареющих мышей C57Bl/6.

## Методика

Исследование выполнено на мышах линии C57Bl/6 ( $n=46$ , масса  $24,0 \pm 1,0$  г, возраст 12 мес). Животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом при свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводились в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и регламентом декларации ЕС от 22 сентября 2010 г. об использовании лабо-

раторных животных в научных целях. Исследование одобрено локальным Этическим комитетом института (протокол №3 от 08.06.2023 г.).

Мыши были разделены на 3 группы: контрольная группа ( $n=16$ ) получала интраназально физиологический раствор в объеме 4 мкл. 1-я опытная группа ( $n=14$ ) в течение 3 сут ежедневно получала интраназально растворенные в физиологическом растворе поликлональные моноспецифические антитела к глутамату (АТ-ГЛУ, 250 мкг/кг) в объеме 4 мкл; 2-я опытная группа ( $n=16$ ) получала интраназально по аналогичной схеме  $F(ab')_2$  фрагменты АТ-ГЛУ в той же дозе по той же методике. Оценивали поведенческую активность мышей в тесте «Открытое поле» (ОП) и уровень тревожности с использованием приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ). Эксперименты на животных проводили с 10:00 до 15:00 ч.

Поликлональные моноспецифические антитела к глутамату получали по описанному ранее протоколу по стандартной схеме иммунизации самцов кроликов Шиншилла конъюгированным с бычьим сывороточным альбумином (БСА) глутамата [21]. Антитела в виде  $\gamma$ -глобулиновой фракции выделяли из сыворотки крови осаждением сульфатом аммония (50%), с последующим диализом.  $\gamma$ -Глобулиновую фракцию очищали от примесей антител к БСА методом аффинной хроматографии с использованием в качестве сорбента CNBr-Sepharose (Sigma) с иммобилизованным на нем БСА, лиофилизировали и хранили при 4 °С.

$F(ab')_2$  фрагменты АТ-ГЛУ получали из аффинно-очищенных АТ-ГЛУ с использованием набора реактивов Pierce  $F(ab')_2$  Preparation Kit («ThermoScientific», США) в соответствии с протоколом фирмы производителя. К оптимальному количеству пепсина, иммобилизованного на агарозе, добавляли 0,5 мл раствора АТ-ГЛУ (4,9 мг/мл), инкубировали 2 ч при 37 °С с перемешиванием. По окончании инкубации отделяли раствор расщепленных антител от иммобилизованного пепсина центрифугированием колонки при  $5000 \times g$  в течение 1 мин. Для очистки от нерасщепленных антител полученный супернатант наносили на колонку с протеином А сефарозой, инкубировали при комнатной температуре с перемешиванием в течение 10 мин. Затем колонку центрифугировали при  $1000 \times g$  в течение 1 мин и собирали раствор, содержащий  $F(ab')_2$  и Fc фрагменты. Очистку раствора от Fc фрагментов осуществляли диализом (50 MWSO). Для проверки чистоты полученных  $F(ab')_2$  фрагментов проводили электрофорез в 12% полиакриламидном геле по методу Лэммли [22].

Тест ОП проводили с использованием многофункциональной системы исследования поведения (TSE MultiConditioning, Германия) по программе «TSE MCS2 – Locomotor activity/Open field) в квадратной арене размером 40×40 см. Тестирование проводили в течение 10 мин при освещении 600 лк. Учитывали продолжительность отдыха (с), время передвижения (с), общую длину пробега (см), среднюю скорость передвижения (см/с), число стоек, число посещения центра поля, длительность пребывания в центре поля (с), число посещения углов и время нахождения в углах (с), число стоек в углах.

Исследование поведения мышей в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) проводили однократно на 6-е сут после последнего введения препаратов. ПКЛ представляет собой установку из пластика, состоящую из центральной площадки, от которой крестообразно расходятся 4 рукава размером 30×6 см каждый. Два противоположных рукава открытые (ОР) без стенок и два закрытых (ЗР) по бокам бортиками высотой 30 см. Высота лабиринта над полом 1 м, освещенность 24 лк. Мышь помещали на площадку в центр лабиринта головой в сторону одного из ОР. Учитывали общее время пребывания в открытых и закрытых рукавах (с), число стоек и число реакций заглядывания под лабиринт (свешиваний). Продолжительность тестирования для каждой мыши составляла 5 мин.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Statistica 7.0. Учитывая, что показатели каждой из выборок не соответствуют закону нормального распределения по Колмогорову–Смирнову, для статистической обработки применяли однофакторные критерии непараметрической статистики Н-критерий Kruskal–Wallis ANOVA с последующим post-hoc анализом по U-критерию Mann–Whitney. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимались равными 0,05. Данные представлены в виде медианы и границ квартилей [25;75%].

## Результаты

Тестирование поведенческих реакций в ОП у мышей контрольной и опытных групп проводили на 5-е сут после последнего введения препаратов. Анализ полученных данных не выявил значимых различий между показателями локомоторной активности (пройденное расстояние, скорость движения, время отдыха, число стоек) между мышами опытных и контрольной групп (табл. 1). Дополнить поведенческий профиль исследуемых групп животных позволил ана-

лиз таких реакций, как число заходов и время нахождения в центре поля, число посещений и время, проведенное в углах поля, и число стоек в углах поля. Установлено, что первичное помещение животного в «открытое поле» вызывает в основном поведенческие реакции, опосредованные тревогой и страхом, животные избегают ярко освещенных и открытых участков поля [21]. Результаты, полученные при тестировании мышей в тесте «открытое поле», свидетельствуют о наличии значимых межгрупповых различий (контроль и опыт): число посещений центра поля [H (2, N=22)=15,27625,  $p=0,0005$ ]; время, проведенное в центре поля [H (2, N=22)=15,09088,  $p=0,0005$ ]; время, проведенное в углах [H (2, N=22)=17,30244,  $p=0,0002$ ]; число стоек в углах поля [H(2,N=22)=6,107205,  $p=0,047$ ].

Интраназальное введение стареющим мышам АТ-ГЛУ, как и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов АТ-ГЛУ, приводило к существенному увеличению количества посещений и времени пребывания в центре поля при сравне-

нии с группой контроля (табл. 1). По количеству посещения углов «открытого поля» существенной разницы между исследуемыми группами животных не отмечено. В то же время мыши, получавшие интраназально АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ, снизили время пребывания в углах поля в 1,6 ( $p<0,01$ ) и 1,2 ( $p<0,01$ ) раза и увеличивали количество стоек в углах поля в 1,6 ( $p<0,05$ ) и 2 ( $p<0,05$ ) раза, соответственно, при сравнении с животными контрольной группы (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о снижении уровня тревожности у стареющих мышей, получавших интраназально АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ.

Приподнятый крестообразный лабиринт является одним из общепринятых тестов при оценке уровня тревожности у грызунов. Избегание светлых участков ПКЛ считается одним из наиболее надежным и устойчивым признаком уровня тревожности [23, 24]. При межгрупповом сравнении данных тестирования животных в ПКЛ установлены существенные межгрупповые различия (контроль и опыт):

Таблица 1/Table 1

## Поведенческая активность мышей линии C57Bl/6 в тесте «Открытое поле»

## Indicators of Behavioral Activity in C57Bl/6 Mice in the Open Field Test

Показатели/ Indicators	Группа мышей/ mice's group		
	Контроль / Control	Антитела к глутамату / Glutamate antibodies	F(ab') <sub>2</sub> фрагменты антител к глутамату / F(ab') <sub>2</sub> fragments of glutamate antibodies
Время отдыха, с / Rest time, s	341,30 [297,80; 358,40]	348,30 [308,00; 415,30]	351,40 [337,30; 355,10]
Время движения, с / Travel time, s	258,70 [241,60; 302,15]	300,85 [251,70; 367,40]	248,60 [244,90; 262,70]
Длина пробега, см / Run length, cm	8443,80 [6333,05; 9163,20]	9312,90 [4967,00; 11786,80]	6990,70 [6333,40; 8395,95]
Скорость движения, см/с / Movement speed, cm/s	28,15 [25,90; 31,95]	36,85 [30,80; 39,60]	27,30 [25,70; 30,00]
Количество стоек / Number of racks	5,50 [2,50; 9,50]	2,50 [1,00; 5,00]	5,5 [2,50; 9,50]
Количество посещений центра поля / Number of visits field center	0,60 [0,00; 1,00]	5,00 [3,00; 6,50]**	2,00 [1,00; 3,00]**
Время пребывания в центре поля, с / Time spent in the center of the field, s	5,60 [3,50; 7,90]	47,00 [42,00; 52,00]**	17,00 [12,00; 56,00]**
Количество посещений углов / Number of visits corners	19,00 [16,00; 22,00]	23,00 [21,50; 24,00]	19,00 [14,00; 27,00]
Время пребывания в углах, с / Time of stay in the corners, s	438,60 [402,00; 487,00]	265,00 [261,50; 271,50]**	368,00 [318,00; 372,00]**
Количество стоек в углах / Number of posts in the corners	3,57 [1,00; 8,00]	5,87 [3,00; 9,00]*	7,14 [3,00; 14,00]*

**Примечание.** Здесь и в табл. 2 \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$  при сравнении с группой контроля.

**Note.** Here and in Table 2 \* –  $p<0.05$ ; \*\* –  $p<0.01$ ; \*\*\* –  $p<0.001$  in comparison with the control group.

Таблица 2/Table 2

**Влияние антител к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов антител к глутамату на поведение мышей в приподнятом крестообразном лабиринте**  
**Effect of Glutamate Antibodies and F(ab')<sub>2</sub> Fragments Glutamate Antibodies on Behavioral of Mice in the Elevated Plus Maze**

Группа/ Group	Показатели/Indicators			
	Время пребывания в открытом рукаве, с / Time spent in the open arm, s	Время пребывания в закрытом рукаве, с / Time spent in a closed sleeve, s	Число стоек/ Number of rears	Число свешиваний / Number of «hanging» reactions
Контроль/ Control	29,00 [19,00; 36,00]	271,00 [255,00; 281,00]	3,00 [1,00; 5,00]	3,00 [1,00; 3,00]
Антитела к глутамату/ Glutamate Antibodies	63,00 [51,00; 79,50]**	237,00 [220,50; 249,00]**	11,00 [4,00; 13,00]*	9,00 [3,5; 13,00]*
F(ab') <sub>2</sub> фрагменты антител к глутамату / F(ab') <sub>2</sub> fragments glutamate antibodies	58,00 [36,00; 69,00]***	242,00 [231,00; 264,00]*	7,00 [5,00; 8,00]**	7,00 [5,00; 8,00] **

время, проведенное в открытых рукавах лабиринта [H(2,N=22)=9,337861, p=0,0094]; время в закрытых рукавах [H(2,N=22)=7,838285 p=0,0199]; число стоек [H(2,N=22)=7,2809557, p=0,026]; число реакций «свешивания» [H(2, N= 22) =8,927835 p =0,0115].

Мыши, получавшие интраназально АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ, увеличили в 2,2 (p<0,01) и 2,0 (p<0,01) раза время нахождения в открытых рукавах лабиринта (соответственно) при сравнении с животными группы контроля (табл. 2). У опытных групп мышей также наблюдали существенное в 3,7 (p<0,05) и в 2,3 (p<0,01) раза увеличение числа стоек (табл. 2). Заглядывание за край лабиринта («свешивание») отражает состояние тревоги и страха. Многие авторы связывают реакцию «свешивания» с когнитивными функциями мозга, такими как оценку риска перед принятием решения, что считается актуальным при изучении эффектов анксиолитических препаратов [23, 24]. В настоящем исследовании мыши, получившие интраназально АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты АТ-ГЛУ, более чем в 3 и в 2 раза соответственно (p<0,01) увеличивали число заглядываний за край лабиринта при сравнении с группой контроля, что свидетельствует о снижении уровней страха и тревоги.

Значимых различий в эффектах АТ-ГЛУ и F(ab')<sub>2</sub> фрагментов АТ-ГЛУ на поведение мышей в тестах «открытое поле» и ПКЛ не выявлено.

**Заключение**

Полученные результаты свидетельствуют о возможности снижения уровня тревожности и страха у стареющих мышей C57Bl/6, получавших интраназально антитела к глутамату и их F(ab')<sub>2</sub> фрагменты. Так, в тесте «открытое поле» у мышей, получавших

интраназально антитела к глутамату и F(ab')<sub>2</sub> фрагменты антител к глутамату отмечали увеличение частоты посещения и продолжительности пребывания в центре поля, снижение проведенного времени и увеличение исследовательской активности (числа стоек) в углах открытого поля, что свидетельствует о снижении уровня тревожности. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт», который широко применяется для исследования уровня тревожности у животных [23, 24], было выявлено существенное увеличение времени нахождения в открытых рукавах лабиринта, увеличение числа стоек и «свешивания» (заглядывание под лабиринт) у мышей C57Bl/6, получавших антитела к глутамату и их F(ab')<sub>2</sub> фрагменты, что также свидетельствует о снижении уровня тревожности и страха. Таким образом, полученные данные позволяют предполагать наличие у антител к глутамату и их F(ab')<sub>2</sub> фрагментов анксиолитического эффекта.

**Литература**

**(п.п. 5; 6; 8; 9; 13-16; 19; 22; 24; 25 см. References)**

1. Горшунова Н.К., Григорьян М.Ф. Стрессочувствительность и стрессоустойчивость лиц пожилого и старческого возраста. *Геронтология*. 2014; 2(1): 82-91.
2. Левин О.С., Чимагомедова А.Ш. Тревога и агитация у пожилых. *Современная терапия в психиатрии и неврологии*. 2020; (3-4): 13-20.
3. Котова О.В., Беляев А.А., Акарачкова Е.С. Современные методы диагностики и лечения тревожных и депрессивных расстройств. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2021; 5(10): 648–53. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-10-648-653>
4. Сюняков Т.С., Сюняков С.А., Дорофеева О.А. Механизмы ангиогенеза и терапия тревоги. *Психиатрия и психофармакотерапия*. 2011; 13(6): 9-15.
5. Левин О.С., Чимагомедова А.Ш., Арефьева А.П. Тревожные расстройства в пожилом возрасте. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019; 119(6): 113-8.

10. Дергачев В.Д., Яковлева Е.Е., Бычков Е.Р., Пиотровский Л.Б., Шабанов П.Д. Роль глутаматного рецепторного комплекса в организме. NMDA-лиганды при нейродегенеративных процессах — современное состояние проблемы. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022; 20(1): 17–28. <https://doi.org/10.17816/RCF20117-28>
11. Белозор О.С., Шуваев А.Н., Фрицлер Я.В., Шуваев А.Н. Антагонисты NMDA-рецепторов как потенциальные средства для лечения нейродегенеративных заболеваний мозга. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2022; 16(2): 58–69. <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.2.7>
12. Кудряшов Н.В., Устинова М.В., Калинина Г.С. Модуляторы NMDA рецепторов — перспективная группа антидепрессантов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018; 81(8): 26–36.
17. Трекова Н.А., Ветрилэ Л.А. Влияние системного введения антител к глутамату на показатели поведения мышей C57Bl/6 и BALB/C. *Журнал Высшей нервной деятельности*. 2004; 54(3): 405–9.
18. Ветрилэ Л.А., Захарова И.А., Кудрин В.С., Клодт П.М. Влияние антител к глутамату на развитие стресс-реакций и содержание нейромедиаторов в гиппокампе и гипоталамусе крыс с разной поведенческой активностью. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2013; 155(3): 293–8.
21. Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. Влияние F(ab')<sub>2</sub> фрагментов антител к глутамату на изменения памяти у возрастных мышей линии C57Bl/6. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023; 175(6): 2–5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-175-6>
23. Левандовская А.А., Зайченко М.И., Мержанова Г.Х., Саложин С.В. Оценка исследовательской активности и тревожности крыс, различающихся по выраженности импульсивного поведения. *Журнал Высшей нервной деятельности*. 2013; 63(6): 719–29.
8. Nasir M., Trujillo D., Levine J., Dwyer J.B., Rupp Z.W., Bloch M.H. Glutamate Systems in DSM-5 Anxiety Disorders: Their Role and a Review of Glutamate and GABA. *Psychopharmacology*. 2020; 19(11): 548–05. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.548505>
9. Martin E.I., Ressler K.Jr., Binder E., Nemeroff F. The neurobiology of anxiety disorders: brain imaging, genetics, and psychoneuroendocrinology. *Psychiatr Clin North Am*. 2020; 109(1): 74–103. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.05.031>
10. Dergachev V.D., Yakovleva E.E., Bychkov E.R., Piotrovskiy L.B., Shabanov P.D. The role of the glutamate receptor complex in the body. NMDA ligands in neurodegenerative processes — the current state of the problem. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022; 20(1): 17–28. (in Russian). <https://doi.org/10.17816/RCF20117-28>
11. Belozor O.S., Shuvayev A.N., Fritsler YA.V., Shuvayev A.N. NMDA receptor antagonists as potential agents for the treatment of neurodegenerative diseases of the cerebellum *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy neurologii*. 2022; 16(2): 58–69. (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.2.7>
12. Kudryashov N.V., Ustinova M.V., Kalinina G.S. NMDA receptor modulators — a promising group of antidepressants. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2018; 81(8): 26–36. (in Russian)
13. Yun-Fang Jia, Katheryn Winger, Ada Man-Choi Ho, Lee Peyton, Matthew Baker, Doo-Sup Choi. Astrocytic Glutamate Transporter. *Front Behav Neurosci*. 2020; 22(14): 57. Doi: 10.3389/fnbeh.2020.00057
14. Vitek G.E., Decourt B., Sabbagh M.N. Lecanemab (BAN2401): an anti-beta-amyloid monoclonal antibody for the treatment of Alzheimer disease. *Expert Opin Investig Drug*. 2023; 32(2): 89–94. <https://doi.org/10.1080/13543784.2023.2178414>
15. Goulet Dennis R., Atkins William M. Considerations for the Design of Antibody-Based Therapeutics. *J Pharm Sci*. 2020; 109(1): 74–103. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.05.031>
16. Katsinelos Taxiarchis, Tuck Benjamin J., Mukada Aamir S., McEwan William A. The Role of Antibodies and Their Receptors in Protection Against Ordered Protein. *Front Immunol. Sec. Molecular Innate Immunity*. 2019; 2019; 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01139>
17. Trekova N.A., Vetrile L.A. The effect of systemic administration of antibodies to glutamate on the behavioral parameters of C57Bl/6 and BALB/C mice. *Zhurnal Vysshey nervnoy deyatelnosti*. 2004; 54(3): 405–9. (in Russian)
18. Vetrile L.A., Zakharova I.A., Kudrin V.S., Klodt P.M. The effect of antibodies to glutamate on the development of stress reactions and the content of neurotransmitters in the hippocampus and hypothalamus of rats with different behavioral activity. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2013; 155(3): 293–8. (in Russian)
19. Kucheryanu V.G., Vetrile L.A., Zakharova I.A., Voronina N.A. Effect of anti-Glutamate antibodies in modeled parkinsonian syndrome. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 169(4): 431–4.
20. Davydova T.V., Vetrile L.A., Zakharova I.A., Gruden M.A., Kudrin V.S., Narkevich V.B., et al. Antibodies to Glutamate facilitate spatial memory formation in the Morris water maze in aging C57Bl/6 mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 169 (1): 5–8.
21. Davydova T.V., Vetrile L.A., Zakharova I.A. Influence of F(ab')<sub>2</sub> fragments of anti-glutamate antibodies on memory changes in aged C57Bl/6 mice. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i medi-*

## References

1. Gorshunova N.K., Grigor'yan M.F. Stress sensitivity and stress resistance of elderly and senile people. *Gerontologiya*. 2014; 2(1): 82–91. (in Russian)
2. Levin O.S., Chimagomedova A.Sh. Anxiety and agitation in the elderly. *Sovremennaya terapiya v psikiatrii i neurologii*. 2020; (3–4): 13–20. (in Russian)
3. Kotova O.V., Belyayev A.A., Akarachkova E.S. Modern methods of diagnosis and treatment of anxiety and depressive disorders. *RMZH. Meditsinskoye obozreniye*. 2021; 5(10): 648–53. (in Russian). <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2021-5-10-648-653>
4. Syunyakov S.A., Dorofeyeva O.A. Mechanisms of anxiogenesis and anxiety therapy. *Psikhiatriya i psikhofarmakoterapiya*. 2011; 13(6): 9–15. (in Russian)
5. Frank D., Gruenbaum B.F., Shelef I., Zvenigorodsky V., Sevrynovska O., Fleidervish I., et al. Blood glutamate scavenging as a novel glutamate-based therapeutic approach for post-traumatic brain injury anxiety and social impairment. *Transl Psychiatry*. 2023; 13(1): 41. <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02329-1>
6. Caldas C.P., Bertero C.M. Living as an oldest old in Rio de Janeiro: the lived experience told. *Nursing science quarterly*. 2007; 20(4): 376382.
7. Levin O.S., Chimagomedova A.Sh., Aref'yeva A.P. Anxiety disorders in the elderly. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsikova*. 2019; 119(6): 113–8. (in Russian)

- tsiny*. 2023; 175(6): 2-5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-175-6>
22. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680–5.
  23. Levandovskaya A.A., Zaychenko M.I., Merzhanova G.K.H., Salozhin S.V. Evaluation of exploratory activity and anxiety in rats that differ in the severity of impulsive behavior. *Zhurnal Vysshey nervnoy deyatel'nosti*. 2013; 63(6): 719-29. (in Russian)
  24. Cholieris E., Thomas A.W., Kavaliers M., Prato F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2001; 25(3): 235-60. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00011-2)
  25. Baumgartner N.E., Biraud M.C., Lucas E.K. Sex differences in socio-emotional behaviour and changes in ventral hippocampal transcription across aging in C57Bl/6 mice. *Neurobio Aging*. 2023; 130: 141-53. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2023.05.015>

**Сведения об авторах:**

**Ветрилэ Лучия Александровна**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр., ФГБНУ НИИОПП;  
**Захарова Ирина Александровна**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., ФГБНУ НИИОПП;  
**Лобанов Александр Владимирович**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., ФГБНУ НИИОПП;  
**Давыдова Татьяна Викторовна**, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., ФГБНУ НИИОПП.